

uzbrojenie Policji broni gładkolufowej typu MOSSBERG KAL. 12/76 oraz SDASS IMPERATOR KAL. 12/76), -24. Załącznik do zarządzenia nr. 22 /96 Komendanta Głównego Policji z dnia 1 lipca 1996 (rodzaje amunicji kal. 12 do broni gładkolufowej)

Adres pierwszego autora:
Katedra Medycyny Sądowej CM UJ
ul. Grzegórzecka 16
31-531 Kraków

Tadeusz Dobosz*, Maria Sasiadek, Elżbieta Kowalczyk*,
Barbara Świątek*, Józef Jagielski****

Prenatalne badanie w sprawie spornego ojcostwa. Opis przypadku

Prenatal paternity testing - a case description

* Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. B. Świątek

** Z Katedry Patofizjologii i Genetyki AM we Wrocławiu
Kierownik: prof. dr hab. J. Jagielski

W pracy autorzy przedstawiają przypadek prenatalnego badania w sprawie spornego ojcostwa przy użyciu mikrosatelitarnej multipleksowej technologii badań DNA.

In this paper the authors presented a case of prenatal paternity testing, using DNA microsatellite multiplexing technology.

Słowa kluczowe: Dochodzenie ojcostwa, badania prenatalne, mikrosatelity DNA.

Key words: Paternity testing, prenatal diagnosis, DNA microsatellite.

WSTĘP

Z dostępnej literatury (cyt. wg. Mayera i wsp.,1.) wynika, że Werkgartner we Wiedniu, w 1925 roku po raz pierwszy zastosował grupy krwi do ustalenia spornego ojcostwa. Jak podaje Turowska (2), pierwsze (udokumentowane) badanie krajowe miało miejsce w 1926 roku w Krakowie. Kolejnym kamieniem milowym było wprowadzenie przez Jeffreysa i wsp. (3) w 1985 roku technologii DNA do ustalania ojcostwa. W 1990 roku Schneider i wsp. (4) po raz pierwszy donieśli o możliwości dochodzenia spornego ojcostwa natychmiast po urodzeniu się dziecka, a Lobbiani i wsp. (5) wykonali pierwsze badanie ojcostwa prenatalne, techniką hybrydyzacyjną. W 1998 roku nasza Pracownia DNA wydała dla osób prywatnych pierwsze opinie ustalenia spornego ojcostwa oparte wyłącznie

na technice PCR, do której potrzeba bardzo mało materiału. Ten przełom metodyczny umożliwił wykonanie badania przedurodzeniowego. W dostępnym piśmiennictwie nie natrafiłszy na opis przypadku prenatalnego badania ojcostwa przy użyciu tylko techniki PCR. W niniejszym doniesieniu przedstawiamy przypadek praktycznego zastosowania multipleksowych badań DNA do prenatalnego ustalenia ojcostwa.

OPIS PRZYPADKU

Pacjentka lat 42 zgłosiła się do Poradni Genetycznej w 13 tygodniu ciąży w celu wykonania prenatalnego badania cytogenetycznego z powodu wieku. Po tygodniu trwania hodowli amniocytów, pacjentka wniosła dodatkową prośbę o wykonanie przedurodzeniowego ustalenia ojcostwa. Wynikało to z jej skomplikowanej sytuacji życiowej - podjęła decyzję, że na stałe zwiąże się jedynie z biologicznym ojcem dziecka, ale nie miała pewności, który z dwu jej przyjaciół nim jest. Po otrzymaniu wyniku badania, wbrew wcześniejszym ustaleniom, pacjentka zrezygnowała z badania drugiego partnera, ponieważ stwierdziła, że jej sytuacja życiowa została już całkowicie wyjaśniona.

MATERIAŁY I METODY

Pobranie płynu owodniowego: płyn owodniowy pobrano ze wskazań medycznych, w 13 tygodniu ciąży, drogą punkcji poprzez powłoki brzuszne, pod kontrolą USG.

Hodowla komórek płynu owodniowego: hodowlę prowadzono metodą standardową inkubując amniocyty w podłożu hodowlanym (AmnioMax) w ciepłarni z przepływem CO₂ przez 14 dni.

Pobranie krwi od matki i domniemanych ojców: krew pobrano poprzez nakłucie palca. Niewielką kroplę krwi zasuszono na bibule w temperaturze pokojowej.

Izolacja DNA: DNA od płodu wyizolowano z popłuczyn naczynia hodowlanego po hodowli komórek do badania cytogenetycznego, a DNA od matki i pierwszego z domniemanych ojców z plam krwi na bibule. Niezależnie od rodzaju materiału, do izolacji DNA użyto techniki cheleksowej wg. Walscha i wsp. (6).

Badania DNA: użyto testów firmy PE Biosystems o nazwach Profiler plus, Cofiler, HLA DQA1 i PolyMarker. Badania wykonano zgodnie z zaleceniami firmy, przy użyciu termocyclera Perkin - Elmer typ 2400. Wyniki badania układów mikrosatelitarnych analizowano na sekwencerze kapilarnym PE Biosystems ABI 310.

WYNIKI

W wyniku badania stwierdzono prawidłowy kariotyp płodu (żeński) oraz wyłączone ojcostwo badanego partnera.

Uzyskane wyniki badania przedstawione są w tabeli I.

Tabela I. Wyniki badania prenatalnego.

Table I. Results of prenatal testing.

Układ System	Domniemany ojciec Putative father	Płód Fetus	Matka Mother
D3S1358	17/19	15/17	15/18
VWA	17/19	18/18	17/18
FGA	19/20	26/26.2	21/26
Amel.	XY	XX	XX
D8S1179	12/13	13/14	14/14
D21S11	28/30	28/30	28/30.2
D18S51	14/15	12/18	12/12
D5S818	12/13	11/13	11/12
D13S317	11/13	11/12	8/11
D7S820	9/10	10/11	10/11
D16S539	11/11	11/11	10/11
TH01	9.3/9.3	9/9.3	9/9.3
TPOX	8/11	8/11	8/11
CSF1PO	11/14	10/12	10/13
LDRL	AB	AA	AB
GYP A	BB	AB	BB
HBGG	BB	AA	AA
D7S8	AB	AA	AB
GC	AC	AC	CC
HLA DQA1	1.2/4.1	1.2/4.1	1.2/4.1

Z tabeli I wynika, że ojcostwo domniemanego ojca jest wyłączone w układach VWA, FGA, D18S51, D13S317, CSF1PO, GYP A i HBGG.

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Prowadzenie przedurodzeniowych badań prenatalnych ojcostwa naszym zdaniem budzi wiele wątpliwości, które można rozpatrywać w dwu płaszczyznach:

- jako problem techniczny, który, jak wynika z prezentowanych w tej pracy wyników został już w pełni rozwiązany.

- jako problem etyczny:

1. Zagrożenie dla płodu wynikające z inwazyjności techniki pobierania materiału do badań (w przypadku amniocentezy ryzyko powikłań wynosi około 0,5%) sprawia iż nie podlega dyskusji, że badań prenatalnych nie należy przeprowadzać wyłącznie w celu ustalenia ojcostwa. Dlatego uważamy, że do czasu opracowania bezpiecznych dla płodu technik pobierania materiału badania te można wykonywać tylko wówczas, gdy do pobrania komórek płodu dochodzi ze wskazań medycznych, a jedynie niewielka część materiału biologicznego zostanie wykorzystana do ustalenia spornego ojcostwa.
2. Zagrożenie aborcją. Wydaje się, że ten aspekt jest szczególnie trudny do oceny. W przedstawionym przypadku pacjentka nie brała pod uwagę aborcji w żadnym przypadku, niezależnie od wyniku badania. Chciała jedynie dokonać wyboru właściwego (biologicznego) ojca dla dziecka. Należy jednak liczyć się z możliwością że mogą zdarzyć się przypadki, w których wykonanie przedurodzeniowego ustalenia ojcostwa przyniesie wynik, skłaniający matkę do nieakceptowanego społecznie postępowania. Z drugiej jednak strony, w przypadku podejrzenia zajścia w ciążę w wyniku zgwałcenia kobiety, która oprócz tego utrzymuje dobrowolne stosunki seksualne, wykonanie takiego badania może ratować życie płodu poprzez rozwianie wątpliwości co do ojcostwa.

PIŚMIENNICTWO

1. Mayr W., Brinkmann B., Rand S.: Paternity testing: Quo vadis. Blood Reviews 1991, 5, 51-52. - 2. Turowska B.: Badania grupowe krwi w sprawach spornego ojcostwa przeprowadzone w Katedrze i Zakładzie Medycyny Sądowej w Krakowie w latach 1926-1996. Arch. Med. Sąd. Krym. 1997, 47, 139-145. - 3. Jeffreys A., Wilson U., Thein S.: Hypervariable „minisatellite” regions in human DNA. Nature 1985, 314, 67. - 4. Schneider V., Epplen J.T., Póche H.: Paternity testing with the simple oligonucleotide probe GTG_n(CAC)_n immediately *post partum*. Proceedings of First International Conference on DNA Fingerprinting. Bern, 1990, 29. - 5. Lobbiani A., Nocco A., Vederietti P., Colucci G.: Application of DNA fingerprinting to prenatal paternity testing. Proceedings of First International Conference on DNA Fingerprinting, Bern, 1990, 31. - 6. Walsch P., Metzger D., Higuchi R.: Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material. Biotechniques 1991, 10, 506-513.

Adres pierwszego autora:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej AM
ul. Mikulicza-Radeckiego 4
50-368 Wrocław

Renata Jacewicz, Stefan Szram, Wiesława Dudek

Pozorne wyłączenie macierzyństwa w lokus D1S80*

The maternity pseudoexclusion in the D1S80 locus.

Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej AM w Łodzi
Kierownik: prof. dr hab. med. S. Szram

Podczas wykonywania rutynowej analizy w sprawie dochodzenia ojcostwa ujawniono rzadki przypadek mutacji w lokus D1S80 - widocznej jako ubytek dwóch jednostek sekwencji repetatywnej.

After examining routine paternity cases the rare event of mutation in the D1S80 locus in the shape of the loss of two numbers of repeat units was observed.

Słowa kluczowe: lokus D1S80, analiza AmpFLP, przypadek mutacji, sądowe badania DNA.

Key words: D1S80 locus, Amp-FLP analysis, mutation event, forensic DNA typing.

WSTĘP

Lokus D1S80 należy do sekwencji VNTR (variable number repeat) typu minisatelitarnego. Zlokalizowany jest na krótkim ramieniu pierwszego chromosomu człowieka (6). Podstawowa 16 nukleotydowa sekwencja powtarza się w lokus zwykle od 14 do 41 razy, co warunkuje występowanie ok. 30 różnych alleli w populacji w przedziale wielkości 387-814 pz.

Układ D1S80 należy do chętnie i często wykorzystywanych w badaniach ojcostwa oraz w identyfikacji śladów biologicznych z uwagi na swoistość gatunkową dla człowieka, łatwość amplifikacji, wysokie wskaźniki: heterozygotyczności, siły dyskryminacji, szansy wyłączenia (1, 5, 10, 14, 15) oraz niski poziom mutacji (3, 7, 8, 11)

* Temat opracowany w ramach prac własnych uczelni w. 502-11-465 (54).